

# APC 抗体标记试剂盒

【货号】 ALK-A002

【规格】 100 µg; 500 µg; 1 mg

在进行实验之前，请仔细阅读本手册。

仅供研究使用，不用于诊断或治疗程序。

---

US and Canada: **Tel:** +1 800-810-0816

Asia and Pacific: **Tel:** +86 400-682-2521

**Web:** <http://www.acrobiosystems.com>

**E-mail:** [order@acrobiosystems.com](mailto:order@acrobiosystems.com)

## 目录

【用途】 .....	1
【货号 and 规格】 .....	1
【原理】 .....	1
【组分】 .....	2
【储存】 .....	2
【需要但未提供的实验仪器与耗材】 .....	2
【注意事项】 .....	3
【标记步骤】 .....	4
1. 待标记抗体准备 .....	4
2. 试剂准备 .....	5
3. 抗体修饰 .....	5
4. 抗体标记 .....	5
5. 反应淬灭 .....	6
【标记产物浓度计算】 .....	6
【标记产物储存】 .....	6
【流程简图】 .....	7
【典型数据】 .....	7

## 【用途】

APC 抗体标记试剂盒可以简单、快速地实现 APC 和抗体的偶联，得到的偶联抗体无需进一步纯化，可直接使用，且无抗体损失。

## 【货号 and 规格】

表 1. 货号 and 规格

产品货号	标记规格
ALK-A002-100 $\mu$ g	可一次标记 100 $\mu$ g 抗体
ALK-A002-500 $\mu$ g	可一次标记 500 $\mu$ g 抗体
ALK-A002-1 mg	可一次标记 1 mg 抗体

## 【原理】

别藻蓝蛋白（APC, Allophycocyanin, 以下简称 APC）是一种蓝色荧光蛋白，其激发波长为 640 nm，发射波长为 661 nm。APC 抗体标记试剂盒可以简单快速地实现 APC 和抗体分子的共价偶联。

抗体的链间二硫键经过修饰可以产生有活性的半胱氨酸残基，并与预先活化的染料偶联，得到 APC-抗体偶联物。



## 【组分】

表 2. 组分

产品货号	组分 ID	组份名称	规格 (1 盒)	物理状态	存储条件
ALK-A002-100 µg	ALK02-C01A	Modifier reagent	1 支	粉末	-20°C
	ALK02-C02A	Activated APC			
	ALK02-C03A	Quencher reagent			
ALK-A002-500 µg	ALK02-C01B	Modifier reagent	1 支	粉末	-20°C
	ALK02-C02B	Activated APC			
	ALK02-C03B	Quencher reagent			
ALK-A002-1 mg	ALK02-C01C	Modifier reagent	1 支	粉末	-20°C
	ALK02-C02C	Activated APC			
	ALK02-C03C	Quencher reagent			

## 【储存】

试剂盒保存于-20°C，有效期见外包装盒标签，请在有效期内使用。

## 【需要但未提供的实验仪器与耗材】

1. 单道微量移液器和移液器吸头：需满足 10 µL、300 µL、1000 µL 加样需求
2. 恒温震荡孵育器
3. 涡旋仪
4. 离心管：1.5 mL，2 mL
5. 计时器

## 6. 超纯水或去离子水

**【注意事项】**

1. 仅供科研使用，不可用于体外诊断；
2. 请在试剂盒有效期内使用；
3. 不同试剂盒及不同批号试剂盒的组分不能混用；
4. 本试剂盒用于经纯化后的抗体的标记，对于腹水、血清、杂交瘤或组织培养液中的抗体可能会影响标记效果；
5. 本试剂盒用于 Ig G 亚型抗体分子的荧光标记。

## 【标记步骤】

### 1. 待标记抗体准备

根据待标记抗体质量选择合适规格的 APC 抗体标记试剂盒，用 1×PBS (pH7.2-7.4) 将待标记抗体溶液调整至浓度 2 mg/mL。

本试剂盒待标记的抗体应在 1×PBS (pH7.2-7.4) 缓冲液中，抗体缓冲液中不应含有半胱氨酸、谷胱甘肽等自由巯基物质及 BSA、明胶等保护蛋白。

表 3. 缓冲液成分推荐

常见缓冲液成分	是否可标记
不含巯基的缓冲液	是
pH 6.5-7.5	是
EDTA 螯合剂	<5 mM
海藻糖	≤10%
半胱氨酸	否
谷胱甘肽	否
巯基乙醇或 DTT	否
叠氮化钠	否 <sup>1</sup>
甘油	否 <sup>1</sup>
BSA 或明胶	否 <sup>1</sup>
<b>注意：</b> <sup>1</sup> 这些组分可能会降低标记效率。	

## 2. 试剂准备

2.1 将各组分样品管取出，平衡至室温。

**注意：**如果ALK02-C01，ALK02-C03管内粉末贴壁，可1000 g离心 1分钟，使粉末聚集到管底。

2.2 按照表4，向组分ALK02-C02，ALK02-C03加入去离子水，静置溶解，于4℃避光保存，待使用。

表 4. 溶解体积

组分标签	组分名称	溶解体积		
		100 µg 试剂盒	500 µg 试剂盒	1 mg 试剂盒
ALK02-C02	Activated APC	35 µL	150 µL	300 µL
ALK02-C03	Quencher reagent	50 µL	50 µL	50 µL

**注意 1：**表中溶解体积足够满足反应需要。

**注意 2：**溶解后请吹吸重悬 ALK02-C02 溶液，以混合均匀，勿剧烈震荡和涡旋。

2.3 该组分溶解后，应在当天内使用。

## 3. 抗体修饰

3.1 将准备好的待标记抗体溶液加入到ALK02-C01样品管中，吹吸或涡旋使其混合均匀。

3.2 将反应体系放置在震荡孵育器中，100 rpm，37℃避光反应1小时。

**注意：**反应过程中应100 rpm 震荡，如无震荡孵育器，需每隔30分钟吹吸混匀一次。

## 4. 抗体标记

4.1 取溶解好的ALK02-C02组分，按照表5中的体积加入到修饰后的抗体溶液中，混匀。

**注意：**如需标记1mg 抗体，转移反应体系到2-5 mL 离心管中，以确保足够反应体积。

4.2 将反应体系放置在震荡孵育器中，100 rpm，37℃避光反应1小时。

表 5. 加样体积

组分标签	组分名称	加样体积		
		100 µg 试剂盒	500 µg 试剂盒	1 mg 试剂盒
ALK02-C02	Activated APC	30 µL	150 µL	300 µL
ALK02-C03	Quencher reagent	4 µL	20 µL	40 µL

**注意：** 移液前请将溶液充分混合。

## 5. 反应淬灭

5.1 取溶解好的ALK02-C03组分，吹吸混匀，按照表5中的体积加入到反应体系中，混匀。

5.2 室温避光静置0.5小时，得到标记好的抗体。

### 【标记产物浓度计算】

标记产物的浓度计算方式：已知抗体投料量（µg），已知反应总体积（µL），按照如下公式计算：

$$\text{标记产物浓度} \left( \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}} \right) = \frac{\text{抗体投料量} (\mu\text{g})}{\text{抗体溶液体积} (\mu\text{L}) + \text{APC体积} (\mu\text{L}) + \text{淬灭剂体积} (\mu\text{L})}$$

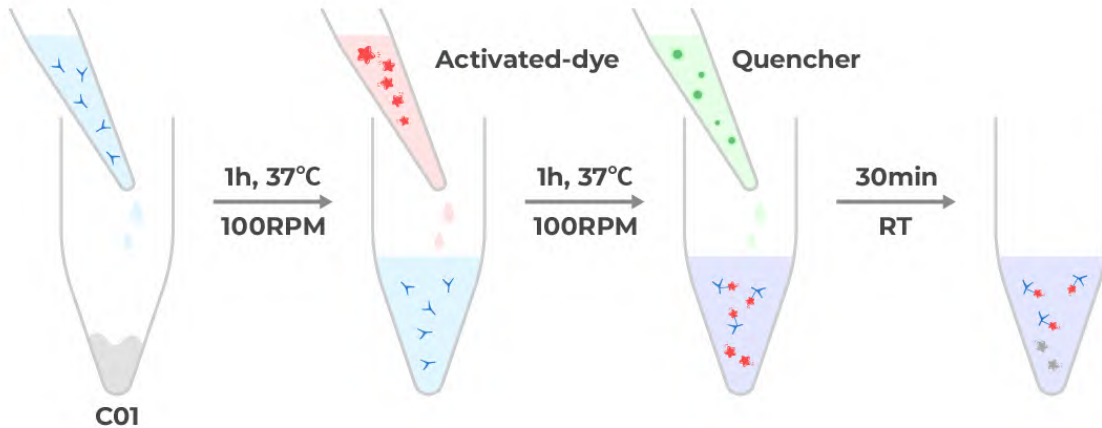
例：100 µg 抗体（2 mg/mL），标记产物浓度 =  $\frac{100 \mu\text{g}}{50 \mu\text{L} + 30 \mu\text{L} + 4 \mu\text{L}} = 1190.48 (\mu\text{g/mL})$

### 【标记产物储存】

由于反应体系中已经含有防腐剂 Proclin 300，一般标记产物推荐 4℃避光储存。最佳储存条件推荐根据实验、抗体稳定性等确定。



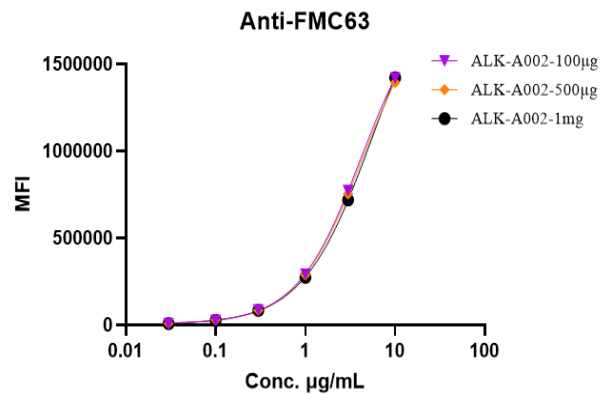
**【流程简图】**



**【典型数据】**

使用 ALK-A002-100  $\mu\text{g}$  / 500  $\mu\text{g}$  / 1 mg 试剂盒的标记产物性能数据。

Conc. ( $\mu\text{g/mL}$ )	ALK-A002-100 $\mu\text{g}$	ALK-A002-500 $\mu\text{g}$	ALK-A002-1mg
10	1420455	1394360	1422007
3	773367	754292	718764
1	293450	288295	274046
0.3	86673	85398	84897
0.1	28650	29231	26860
0.03	8628	8947	7996
blank	40		



具体 MFI 值可能因不同的靶点、实验室、实验员或设备而不同，该数据仅供参考。